

BOLU, ANKARA, SAKARYA VE İZMİR İLLERİNDEKİ KANATLI MEZBAHANELERİNDEN ELDE EDİLEN ETLİK PİLİÇLERİN ET VE KARACİĞERİNDE KLENBUTEROL KALINTILARIN İNCELENMESİ*

The Research of Clenbuterol Residues in Liver and Meat of Broilers Collected from Hatcheries in Ankara, Bolu, Sakarya and İzmir Provinces

Yasemin GÜREL**

ÖZET

Bu çalışma Türkiye’de kanatlı sektöründe anabolik amaçlı olarak beta agonistlerden olan klenbuterolün kullanılıp kullanılmadığını araştırmak ve bunu tüketen insanların risk altında olup olmadığını belirlemek amacıyla yapıldı. Bunun için Sakarya, Bolu, Ankara ve İzmir olmak üzere dört ilden 96 adet tavuk eti ve 96 adet tavuk karaciğeri toplandı. Stok standartlar hazırlandıktan sonra, kalibrasyon eğrisi çizildi. Kör örneklere standartlar katılarak geri alımlar tespit edildi. Karaciğerde ve ette geri alımlar sırasıyla %60.26 ve %62.15 bulundu. Toplanan 192 tavuk eti ve karaciğer örneği GC-MS metoduyla analize alındı. Örnekler katı faz özütlemeyen geçirilerek çoklu kalıntı metoduyla ve GC-MS yöntemiyle analiz edilmiştir. Cihazın tespit limiti 2.5 µg/kg olarak belirlendi. Yapılan analizler sonucunda herhangi bir örnekte klenbuterol kalıntısının tespit edilmemiş olması, tüketici sağlığı yönünden memnuniyet verici bulundu. Sonuçlar Türk Gıda Kodeksi Tebliğine göre ppb düzeyinde değerlendirildi (2002/30). Ülkemiz açısından tüketici sağlığının korunabilmesi için gerek kanatlı ve gerekse kırmızı etlerde klenbuterol ve diğer anabolik amaçlı hormonlar yönünden sürekli olarak kalıntı analizlerinin daha fazla örnekte çalışılması gerektiği sonucuna varıldı.

Anahtar kelimeler: Etlık piliç, doku, GC-MS, klenbuterol, kalıntı

SUMMARY

This study was carried out to research if clenbuterol, a beta agonist was used for anabolic purposes in the poultry sector in Turkey and to detect if people consumed these products were under the risk. For the research, from four cities, Sakarya, Bolu, Ankara and İzmir 96 pieces of chicken meat and 96 pieces of chicken liver are collected seasonally. After the preparation of stock standarts the calibration graphic is prepared. The standarts are added to blanc samples by determining the recovery. In liver and meat the recovery in row are found as 60.26 % and 62.15 %. The collected 192 chicken meat and liver samples are taken into analyse by GC-MS methot. The samples are analyzed by passing through solid-phase extraction (C18 filling substance tiny colon) by multiresidue methot and by GC-MS application. The lovest determination level of the apparatus is determination for clenbuterol 2.5 ppb. At the end of these analyses, it was evaluated to be good from the human health point of view since no clenbuterol was detected in

Kabul Tarihi: 26.09.2003

**Aynı isimli doktora tezinden özetlenmiştir.*

***Etlık Veteriner Merkez Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü*

Etlık piliçlerin et ve karaciğerinde klenbuterol kalıntılarının incelenmesi - GÜREL

any samples. The results are evaluated on ppb level according to Turkish Nutrition Codex Announcement (2002/30). It is concluded that more studies should be carried out, to analyse and to monitor the poultry meat and beef for clenbuterol and the other anabolic hormones, and by means of this to protect consumer health in Turkey.

Key words: Broilers, tissue, clenbuterol, GC-MS, residue

GİRİŞ

Hayvanlarda yemden daha fazla yararlanabilmek ve kısa zamanda et üretiminde artış sağlayabilmek için anabolik amaçlı çeşitli hormonlar kullanılmaktadır. Beta-adrenerjik agonist bir ilaç olan klenbuterol vücutta amino asit ve azot tutulmasını sağladığı için özellikle 1980'lerden sonra, tüm dünyada anabolik amaçla evcil hayvanlarda yaygın şekilde kullanılmıştır. Klenbuterol solunum yolları düz kaslarının β_2 reseptörlerini etkinleştirmek suretiyle solunum yollarının düz kaslarını gevşetir. Keza, mast hücrelerinden solunum yollarını daraltıcı mediyatör maddelerin salıverilmesini baskılayarak bronşları genişletir (20).

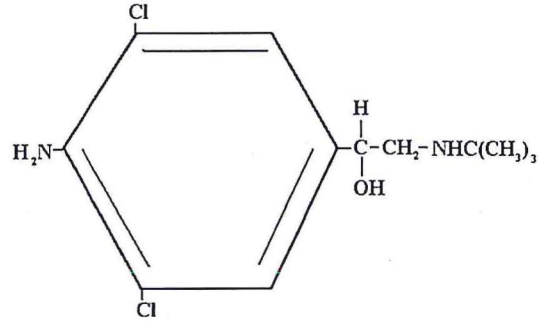
Klenbuterol uygulanan hayvanlarda karkas yağlarının azalarak, kasların geliştiği bildirilmiştir. Bu etki ilacın hem ağızdan, hem de parenteral yollarla verilmesinde de aynıdır (7). Etlık piliçlerin yemlerine 1 ppm klenbuterol katıldığında büyüme artışı ve dokulardaki yağ oranında azalma olduğu ve ayrıca yeme 0.25 ppm dozda katıldığında asites sendromuna iyi geldiği bildirilmiştir(16). Sığırlarda sağaltıcı dozda 5-10 kez verildiğinde gelişmeyi hızlandırmakta ve sığırlarda yenilebilir dokularda kalıntı bırakmaktadır. 1g/kg'dan fazla klenbuterol kalıntısı içeren et ve karaciğerleri tüketen insanlarda zehirlenme olguları ile karşılaşmıştır. Bunun sonucunda da insanlarda farmakolojik ve toksikolojik yönden istenmeyen etkilere sebep olmaktadır. Evcil hayvanlarda yüksek dozda verildiğinde zehirlenmelere rastlanmamıştır (13).

Klenbuterolün içinde bulunduğu Beta adrenerjik agonistler (BAA) son yıllarda büyüme hormonu gibi kullanılmaya başlanmıştır (4, 19, 21).

Beta agonistlerin hayvansal üretimde yaygın olarak kullanımına bağlı olarak dokularda kalıntı bırakması ve etlerin güvenliğini tehlikeye sokması sebebiyle Avrupa Birliği tarafından besi hayvanlarında kullanılması yasaklanmıştır (2).

1. Klenbuterol

1.1. Klenbuterolün Genel Özellikleri



Şekil 1.1. Klenbuterolün kimyasal yapısı (6).

Beta adreno reseptörler üzerine etkili olan ilaçlar, iki kısımda toplanır. Bunlardan birincisi semptomimetiklerdir. Klenbuterolün de içerisinde yer aldığı -agonistler bu gruptan olup solunumu rahatlatmak amacıyla kullanılırlar. Diğerleri ise -antagonistler olup, tansiyonu düşürmek için kullanılırlar. Klenbuterol 4-amino-3 α tert- bütıl amino metil-3,5-diklorobenzil alkol yapısında olan bir β_2 reseptör agonistidir (Şekil 1.1). Sağaltıcı olarak solunum yolu rahatsızlıkları ve astımın sağaltımı için bronş açıcı olarak evcil hayvanlarda ve insanlarda kullanılmaktadır (1,6).

Suda % 99.5 oranında çözünen bu madde, kısmen polar ve lipolitik amino yapıya sahiptir. Klenbuterol ağızdan ve kas içi (Kİ) yolla uygulandığında çabuk emilmektedir. Beta-agonistlerde L

şekli D şeklinden daha güçlü olup, sığır ve domuzlarda yağsız et üretimi için kullanılmaktadır (9, 15).

Klenbuterol kalıntıları 100°C'de kaynatmaya veya pişirmeye çok dayanıklıdır; ama, 260°C'de yağda 5 dk süreli kızartma sırasında % 50'ye varan oranda kayba uğrar (11).

1.2. Klenbuterol Kalıntılarının Oluşturduğu Etkiler ve Hekime İntikal Eden Durumlar

Besinlerde bulunan tolerans düzeyi üzerindeki kalıntılar toksikolojik yönden tehlikeli olarak kabul edilirler; yani, bu şekilde kalıntı içeren besinler tüketiciler için yan etkiler meydana getirebilir. BAA ilaçların uygulanmasından sonra koyun ve sığır kaslarında yaş, tür, cinsiyet ve yedirilen yemin bileşimine bağlı olarak % 40 oranında canlı ağırlık artışı gözlenmiştir (18).

Klenbuterolün çiftlik hayvanlarının daha ekonomik bir şekilde yetiştirilmelerine olanak sağlayan anabolik etkisinden dolayı, amaç dışı olarak yasa dışı bir şekilde kullanımı ve diğer taraftan, kasaplık hayvanların dokularında bıraktığı kalıntı riski, halk sağlığını olumsuz olarak etkilemektedir (14).

Kanatlılarda klenbuterol uygulaması sonucunda canlı ağırlık artışında % 2 artma, yem tüketiminde % 1.5 oranında azalma, yemden yararlanmada % 2'lik artma, karkasta protein oranı yüksek ve yağsız et oranında % 2 ile % 10 arasında artış görülürken, karkas yağında % 7 azalma olduğu tespit edilmiştir. Göğüs kaslarında protein oranında değişme olmazken, karaciğerinde belirgin olarak azalma görüldüğü bildirilmiştir (4, 7, 19).

Yapılan bir araştırmada süt danalarına 10 µg/kg dozda 3 hafta süreyle klenbuterol verilmiştir. Hayvanlar herhangi bir bekletme süresine uyulmaksızın kesildiğinde karaciğer ve akciğer dokusunda yüksek düzeyde (50 ppb) kalıntı olduğu saptanmıştır. Bu miktarda kalıntı içeren karaciğer veya akciğerden 200 g yenilmesi sonucu insanlar

için sağaltıcı etkiye yol açabilecek ölçüde (1/µg/kg doku) klenbuterolün vücuda girmesine yol açtığı bildirilmiştir (10).

Pulce ve ark. (1991) tarafından bildirilen olguda, 2 yerleşim yerindeki 8 aileden 22 kişide baş ağrısı, baş dönmesi, titreme, kalp çarpıntısı, sinirlilik, mide bağırsak rahatsızlıkları, kas ağrısı, eklem ağrısı ve vücutta kırgınlık gibi belirtilerle seyreden bir duruma 375-500 µg/kg miktarında kalıntı halinde klenbuterol içeren buzağı karaciğeri yemelerinin sebep olduğunu ortaya koymuşlardır(17). Bu miktarda kalıntı içeren karaciğerden 100 g yenilmesi bir insan için farmakolojik etkiye sebep olabilecek miktarlarda (37.5-50 µg/60 kg/canlı ağırlık (c.a.)) klenbuterolün vücuda girmesine yol açar. İnsanlarda klenbuterolün farmakolojik dozu 1-2 µg/kg c.a. arasındadır (14,18).

1.3. Yan Etkileri

Klenbuterolün parenteral yollarla verilmesiyle aşağıdaki yan etkiler oluşur. Bu yan etkileri şöyle sıralayabiliriz.

1. 1 µg/kg'dan daha fazla klenbuterol kullanıldığında anoreksiye neden olur.
2. Solunum hastalıklarının sağaltımında kullanıldığında (1 µg/kg'dan fazla) hırıltılı solunum, öksürük ve burun akıntısında artış görülür.
3. Klenbuterolün sağaltım dozlarının üzerinde kullanılması durumunda, ilaç uygulanan hayvanların % 50'sinde ilk iki dk içerisinde oluşan ve yaklaşık bir saat süren rahatsızlık ve terleme görülür.
4. Yüksek doz uygulandığında kas titremeleri görülür (1 g/kg fazla) (15).

MATERYAL ve METOT

MATERYAL

Tavuk yetiştiriciliğinin yaygın şekilde yapılmakta olduğu Bolu, İzmir, Ankara, Sakarya gibi

Etlık piliçlerin et ve karaciğerinde klenbuterol kalıntılarının incelenmesi - GÜREL

illerdeki büyük kapasiteyle çalışan mezbahanelerden her bir ili temsilen 24'er adet olmak üzere 96 adet karaciğer ve 96 adet (özellikle but ve göğüs kısımlarından) et örnekleri toplandı.

METOT

Örneklerin Toplanması

Bir yıl boyunca kanatlı yetiştiriciliğinin çok olduğu ve büyük kapasiteyle çalışan kanatlı mezbahanelerinden 192 adet kanatlı karaciğeri ile etleri toplandı. Örnekler analiz yapıncaya kadar -18°C'de dipfrizde saklandı.

Klenbuterolün stok standart çözeltisi:

Stok çözeltiler 1000 ppm olacak şekilde metanolde hazırlanarak gerekli seyrelmeler yapıldı.

Klenbuterolün Karaciğer ve Et Dokusundan Analizi

Klenbuterolün dokulardan analizi 4 aşamada yapılmaktadır:

- Homojenizasyon (parçalama)
- Hidroliz
- Solid faz özütleme
- Türevlendirme
- GC/MS sistemine uygulama

Dokulardan hazırlanan ve en son olarak türevlendirilerek hazırlanan özütler GC/MS'e uygulanmadan önce cihaz analize hazırlandı. GC parametreleri uygulanıp, bilgisayar sistemine girildikten sonra kütlenin ayarlanması ve analiz için iyonlar belirlendi. Hazırlanan bütün solüsyonlar oda sıcaklığına getirildi. Hassas terazi ve pH metrenin kalibrasyonları yapıldı. Et ve karaciğer örneklerinin yağsız kısımları ayrı ayrı 5'er g tartıldı. 50 ml'lik santrifüj tüpüne alındı. 5 g etin üzerine 50 mM hidroklorik asitten 25 ml eklendi. Homojenizatörde 8000 devirde parçalandı. Parçalanan kısımlar ağzı kapaklı erlene alınarak, 1.5 saat çalkalayıcıda çalkalandı. Bu karışımdan yaklaşık 6 g (1 g dokuya eşdeğer) san-

trifüj tüpüne alındı. 4000 devirde 15 dk santrifüj edildi. Üstteki berrak kısım başka bir santrifüj tüpüne alındı. Üzerine 300 µl 1 N sodyum hidroksit eklendi. 15 dk çalkalayıcıda çalkalandı. Üzerine 4 ml potasyum dihidrojen fosfat eklendi, en az 1.5 saat buzdolabında bekletildi (en fazla 1 gece). 4000 devirde en az 15 dk santrifüj edildi. Üstteki berrak kısım (süpernatant) alınarak santrifüj tüpüne konuldu, özüt C18'e hazırlandı (3).

Özütün C18'den geçirilmesi

C18 kolonun şartlanması için önce mini kolondan 3 ml metanol (dk'da 100 damla), sonra 2 ml çalkalama çözeltisi geçirildi. Berrak özüt süzüldü. Özütün süzülmesi bittikten sonra kolondan tekrar 2 ml çalkalama çözeltisi geçirildi (vakum altında ½ dk bekledi). Son damlalar düştükten sonra hava veya azot basıncı altında kolon kurutuldu (2 dk). Atık kabı çıkartılarak, 10 ml'lik cam tüpler vakum tankına kondu. Tekrar vakum tankı hazırlandı. Vakum altındaki tüplere C18 kolonu aracılığıyla 1 ml metanol eklendi. Alttan tüplere vakum altında metanol geçirildi. Sonra vakum boşaltıldı. Cam tüpler içindeki metanol azot altında uçuruldu. Uçurulan tüplere 100 µl metanol kondu, çalkalayıcıda karıştırıldı ve ağzı vidalı küçük cam şişelere(200µl) alınarak uçuruldu. 100 µl Bistriflorasetamid + %1 Trimetilklorasilan (BSTFA+ %1 TMCS)'den çeker ocak altında eklendi. Küçük cam şişelerin kapağı kapatıldı. 60°C'lik etüvde 30 dk bekletildi. Ağzı vidalı küçük cam şişeler etüvden çıkarıldıktan sonra oda sıcaklığına gelmesi bekledi. Çeker ocak altında uçuruldu. Ağzı vidalı küçük cam şişelere 100 µl izooktan kondu. Hızlı bir şekilde karıştırıcıda karıştırıldı. Ve GC-MS'e verildi (3).

GC-MS'in Analize Hazırlanması

GC-MS'in analiz şartları :

Mass Quadropol ısısı	: 150°C
Enjektör blok ısısı	: 230°C
Interface ısısı	: 250°C
Kolon başlangıç ısısı	: 90°C
Başlangıç ısısında tutulma süresi	: 1 dk
Birinci rampa ısısı	: 20°C/dk
Kolon final ısısı	: 250°C
Enjeksiyon modu	: Splitless
Enjeksiyon miktarı	: 1 mikrolitre
Gaz	: Helyum
Kolon	: Hp 5 MS % 5 metil silikon (30 m x 250 µm x 0.25 µm)
Gaz akış hızı	: 1 ml/dk
Mod	: Daimi akış
Atık akışı	: 10 ml/0.7 dk (8)

Türevlendirme

Her bir stok solüsyondan 100 µl alındı. Azot basıncı altında kuruyana kadar uçuruldu ve bunun üzerine 50 µl kadar türevlendirme maddesinden (BSTFA+%1 TMCS) ilave edilerek kuvvetlice karıştırıldı ve etüvde 60°C'de 30 dk tutuldu. Oda derecesine kadar soğuması için beklenildi. Azot basıncı altında tekrar kuruyana kadar uçuruldu. GC-MS'e enjekte etmek için 100 µl izooktan ile çözdürüldü ve GC-MS'e 1 µl enjekte edilerek analiz başlatıldı (1).

GC-MS'te Örneklerin İşlenmesi

GC-MS cihazı 24 saat süreyle aralıksız şekilde devamlı çalıştırılarak, alıkonma zamanlarında kayma olmaması sağlandı. GC-MS'te tespit limiti belirlendikten sonra standartlar az yoğunluktan çok yoğunluğa doğru tek tek verilerek dört noktalı kalibrasyon eğrisi çizildi. Buna göre örneklerin analizleri yapıldı. Elde edilen sonuçlar tek tek incelendi.

Alıkonma zamanında standart alanının belirlendiği kısımlar arandı.

BULGULAR

Alıkonma süresinin belirlenmesi ve geri kazanım çalışmaları yapılarak metodun güvenilirliği tespit edildi. Kontrol gruplarına klenbuterol standartlarından 100 ppb, 50 ppb, 20 ppb, 10 ppb, 2.5 ppb eklenerek saf klenbuterol standartlarıyla karşılaştırıldı. Aşağıdaki tabloda (Tablo 1) klenbuterolün alıkonma süresi ve moleküler iyonları verildi.

Tablo 1. Klenbuterolün alıkonma süresi ve moleküler iyonları

Madde adı	Alıkonma süresi(dk)	Moleküler iyonlar (m/z)
Klenbuterol	9,07	86 (ana iyon), 262

Dokulara standart eklendikten sonra yapılan özütleme işlemi sonucu, en alt tespit edilebilir düzeyi 2.5 ppb olarak bulundu. Analizi yapılan 192 adet örnekte herhangi bir klenbuterol kalıntısına rastlanılmadı.

Kör örneklere klenbuterolün 100, 50, 10, 2.5 ppb'lik standart çözeltilerinden katılarak elde edilen sonuçlar ile klenbuterolün standart çözeltilisinin farklı şekilde hazırlanarak özütleme işlemi takiben karşılık gelen alanlar ve geri alım sonuçları Tablo 2 'de verilmiştir.

Tablo 2.'de görüldüğü üzere ette ortalama gerilim % 62.15, karaciğerde ortalama geri alım % 60.26 oranında elde edilmiştir.

Etlık pılıçlerin et ve karaciğerinde klenbuterol kalıntılarının incelenmesi - GÜREL

Tablo 2. Klenbuterolün farklı yoğunluklardaki verdiği alan cevapları ve standart sapmaları

Maddenin İsmi	Alıkonma Süresi	Eklenen Yoğunluk (ppb)		Elde Edilen Geri Kazanım (ppb)	Geri Kazanım Yüzdesi	Standart Sapma
Klenbuterol	9,07	Et	100	90	% 90	14,4221
		Et	100	62,5	% 62,5	
		Et	100	82	% 82	
		Et	50	46	% 92	10,58301
		Et	50	26,5	% 53	
		Et	50	30	% 60	
		Et	20	8,4	% 42	1,52752
		Et	20	9,6	% 48	
		Et	20	11	% 55	
		Et	10	6,45	% 64,5	0,57735
		Et	10	5,85	% 58,5	
		Et	10	6,28	% 62,8	
		Et	2,5	1,375	% 55	10,58301
		Et	2,5	1,25	% 50	
		Et	2,5	1,425	% 57	
Klenbuterol	9,07	Karaciğer	100	85	% 85	12,89703
		Karaciğer	100	67	% 67	
		Karaciğer	100	60	% 60	

TARTIŞMA

Evcil hayvanlarda bronşiyal hastalıkların sağaltımında ve ayrıca tokolitik madde olarak kullanılan klenbuterolün anabolik etkisinin anlaşılmasından sonra, yasa dışı olarak yaygın şekilde yüksek dozlarda kullanılması, halk sağlığını tehdit etmeye başlamış ve bu konuda ciddi çalışmalar yapılmasına sebep olmuştur (9).

Klenbuterolün iyileştirici ve klinik kullanımlarından ayrı olarak anabolik ve doping amaçlı yasa dışı bir şekilde kullanılıyor olması, ülkemizde klenbuterol ile ilgili kalıntı izleme programlarının başlamasına sebep olmuştur. Avrupa Birliğinin 86/469/EEC sayılı direktif çerçevesinde denetimlere başlanmış ve ayrıca üçüncü ülkelerden Avrupa Birliği ülkelerine alınacak canlı hayvan ve hayvansal ürünlere de klenbuterol ile ilgili analiz şartı getirilmiştir (2).

Türk Gıda Kodeksinin 16 Kasım 1997 tarih ve 23172 sayılı resmi gazetesinin mükerrer sayısına göre klenbuterolün etinden faydalanılan tüm türlerde tolerans limitleri (EFTT) ette 0.2, sütte 0.05 ve karaciğerde 0.6, yumurtada ise 0.6 µg/kg olarak verilmiştir. Sığırlarda parenteral olarak klenbuterol kullanıldığı zaman etin yenmesi için bekleme süresi 6 gün, buzağılarda ise 28 gündür. Klenbuterol uygulanan sığırlarda sütün tüketilmeme süresi ise 120 gündür. Türk Gıda Kodeksinin 28 Nisan 2002 yılı tebliğinde ise sığırlarda kasta 0.1, karaciğerde 0.5, böbrekte 0.5, sütte 0.05 µg/kg maksimum kalıntı limitleri olarak belirlenmiştir (22,23).

1988 yılından itibaren, başta AB ülkeleri olmak üzere bir çok ülkede klenbuterol için, denetim programları geliştirildikten sonra, yapılan deneysel çalışmalar sonucu sığırlarda anabolik etki oluşturacak dozlarda uygulanan klenbuterolün dokulardaki ilaç yoğunluğunun son uygulamayı

takiben 14 gün sonra tolerans seviyesine indiği belirtilmiştir. Bu miktarın altındaki düzeyleri belirleyebilmek için çabuk sonuç veren günlük analizlere uygun ve çok sayıda örneği kısa sürede analiz edebilen daha duyarlı metotlara gereksinim duyulmuştur (5). Bu amaçla yapılan araştırmalar sonucunda klenbuterolün laboratuvarında analizi ile ilgili; ince tabaka kromatografisi (İTK) ve Mass Spektrometre (MS) metodu, GC metodu, farmakolojik jel formasyonundan analizi için bir HPLC metodu geliştirilmiştir. Belirtilen bu metotlarda, en düşük ölçülebilen miktar olarak yenilebilen dokular (böbrek, karaciğer, et) için 0.5 ng/g, idrar örnekleri için ise 0.25 ng/ml olarak tespit edilmiştir. İTK, ELISA, HPLC, GC, GC-MS metotlarının kullanılmasında uzun ve zahmetli özütlemeyi takiben analiz için deney örneğinin çok iyi bir şekilde saflaştırılması gereklidir. En düşük ölçülebilen düzeye bu şekilde ulaşılabileceğine dikkat çekilmiştir. GC-MS'te tespit edilebilen en düşük miktarları açısından klenbuterol tayininde çok alt seviyelere inilebilmektir (4,5,6,12,24).

Klenbuterol kalıntılarının bulunmaması ülkemiz açısından olumlu olarak değerlendirilmiştir. Bunun sebebinin bu ilaç yerine başka anaboliklerin yasa dışı olarak kullanılması, kanatlı sektöründe yaşanan krizlerden dolayı ilaçların kısıtlı kullanımı veya etlik piliçlerde klenbuterol kullanımının pahalı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Yapılan analizler sonrasında kalıntı bulunmaması tüketici sağlığı bakımından önem arz etmektedir. Ancak ülkemizde bundan sonraki aşamalarda gerek kanatlı ve gerekse kırmızı etlerde tüketici sağlığının korunması bakımından klenbuterol ve diğer anabolik amaçlı hormonlar yönünden sürekli olarak kalıntı analizlerinin gerçekleştirilmesi gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1- ABUKHALAF K, VON DEUTSCH DA, PARKS BA, WINESKİ L, PAULSEN, D,

ABOUL-ENEIN HY, POTTER DE. (2000). *Comparative analytical quantitation of clenbuterol in biological matrices using GC-MS and ELA*. Biomed. Chromatogr. 14: 99-105.

2- ANON (1986). *Concerning examination of animals and fresh meat for the presence of residues*. J. Eur. Com. 1: 223-18.

3- ANON (1998). *Ridascreen, Clenbuterol fast. Enzyme immunoassay for the quantitative analysis of clenbuterol and other Beta-agonists*. Biopharm GmbH, Darmstadt, Germany.

4- DAIRYMPLE RH, BAKER PK, GINGER PE, INGLE, PENSACK DL, RICKS CA. (1984). *A repartitioning agent to improve carcass composition of broilers*. Poultry Sci. 63: 2276-2383.

5- DEGROODT JM, BUKANSKI BW, BEERNAERT H, COURTNEY D. (1989). *Clenbuterol residue analysis by HPLC-HPTLC in urine and animal tissues*. Lebens. Unt. Forsh. 189: 128-131.

6- EDDINS C, HAMANN J, JOHNSON K. (1985). *HPLC Analysis of clenbuterol, a beta-adrenergic drug, in equine urine*. J. Chromatogr. Sci. 23: 221-227.

7- FIEMS LO. (1987) *Effect of beta- adrenergic agonists in animal production and their mode of action*. Anal. Zootech. 36: 271-290.

8- GINKEL CA, STEPHANY RW, ROSSUM HJ. (1992). *Development and validation of multiresidue method for beta-agonists in biological samples and animal feed*. J. Ass. Off Anal. Chem. Int. 75: 554-560.

9- HEINRICH H, MEYER D, LUCIA M. (1991). *The Pharmacokinetics and residues of clenbuterol in veal calves*. J. Anim. Sci. 69: 4538-4544.

10- KAYA S, PİRİNÇÇİ İ. (1997). *Gelişmeyi hızlandırıcılar ve yem katkı maddeleri*. İçinde:

- Veteriner Uygulamalı Farmakoloji. Editörler. S. KAYA, İ. Pirinççi, ve A. Bilgili. Cilt 1-2. 1.Baskı. Medisan Yayın Serisi. ANKARA. p.:50-259-271.
- 11- KAYA S, ÜNSAL A. (2000). *Besinlerde ilaç kalıntıları*. İçinde: Veteriner Uygulamalı Farmakoloji. Editörler: S. Kaya, İ. Pirinççi ve A. Bilgili. Cilt 2. 2.Baskı. Medisan, Ankara, s.: 728-729.
- 12- MALLUCELLI A, RIZZO A, MEYER HHD.(1995). *Purification of clenbuterol, salbutamol, and terbutaline by immunoaffinity chromatography* (IAC). Archiv –fur-lebensmittel-hygiene. 46: 101-103.
- 13- MARTINEZ JF. (1990). *Food Poisoning related to consumption of illicit –agonist in liver*. Lancet. 33: 1311.
- 14- MEYER HHD, RINKO L, DURSH I. (1991). *Residue screening for the –agonists clenbuterol, salbutamol and cimaterol in urine enzym immunoassay and high performance liquid chromatography*. J Chromatogr. 564: 551-556.
- 15- NAZZAL CA. (1985). *The clinical pharmacology of clenbuterol*. Southwest. Vet. 36: 121-125.
- 16- OCAMPO L, CORTES U, SUMANO H, AVILA E. (1998). *Use of low doses of clenbuterol to reduce incidence of ascites syndrome in broilers*. Poultry Sci. 77: 1297-1299.
- 17- PULCE C, LAMASION D, KECK G, BOSTVIRONNOIS C, NICOLAS J, DESCOTES J. (1991). *Collective human food poisonings by clenbuterol residues in veal liver*. Vet. Hum. Toxicol. 3: 120-128.
- 18- RIAZ S S, TOMLINSON D R. (1999). *Clenbuterol stimulates neurotropic support in streptozotocin–diabetic rats*. Diabetes, Obesity and metabolism. 43-51.http // www. Biomed 2. man. ac. Uk / tomlinsonn / riaz % 20 diabetes %20 obes 520 metab 5201999 .pdf
- 19- ROMBOLI I, TURI RM, GIULIOTTI L, PREZIUSO G, CAMPODONI G, GIANFALDONI D, SACCHI P. (1997). *Further investigations on the effect of clenbuterol on performances, carcass composition, meat characteristics and residues in some organs and tissues muscovy ducks*. Arch.Geflügelk. 61: 28-32.
- 20- ŞANLI Y. (1999). Veteriner Klinik Farmakoloji ve İlaçla Sağaltım İlkeleri. Editör. Y.Şanlı. 3. Baskı. Özkan Matbaası. Ankara. s.:465-470.
- 21- TAKAHASHI K, AKIBA Y, HORIGUCHI M. (1993). *Effects of a beta–adrenergic agonist on performance carcass composition hepatic microsomal mixed function oxidase and anti body production in female broilers treated with or without corticosterone*. Br. Poultry Sci. 34: 167-175
- 22- TÜRK GIDA KODEKSİ YÖNETMELİĞİ. (1997). 16 Kasım 1997 Tarih ve 23172 Sayılı Resmi Gazete.
- 23- TÜRK GIDA KODEKSİ TEBLİĞİ. (2002). *Hayvansal Kökenli Gıdalarda Veteriner İlaçları Maksimum Kalıntı Limitleri Tebliği*. 28 Nisan 2002 Tarih ve 24739 Sayılı Resmi Gazete. Tebliğ No: 2002 / 30.
- 24- WILEY J. (1988). *A rapid liquid solid extraction procedure for the quantification of clenbuterol in urine*. Biomed. Environ.Mass. Spectrum. 17: 415-416.